

# 細胆管細胞癌の発生機序の解明と診断に有用なマーカーの探索

国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 病理診断科

医員 木脇 圭一

(共同研究者)

帝京大学医学部附属病院病理診断科

教授 近藤 福雄

国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 病理診断科

医員 佐藤 順一朗

## はじめに

近年の肝炎ウイルスに対する治療、予防の進歩により肝癌の発生率は減少傾向にあるが、肝癌は依然として予後不良の疾患であり、2016年の主要部位別がん年齢調整死亡率で第5位を占める<sup>(1)</sup>。細胆管細胞癌(cholangiolocellular carcinoma, CLC)は比較的稀な腫瘍で、1959年にSteiner, Higginsonらによって報告された原発性肝癌の一種である<sup>(2)</sup>。幹細胞形質を有し、組織学的には肝内胆管癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)に類似するが肝内胆管癌に比べ予後良好とされている。そのため手術が必ずしも第一選択とならない高齢者においては病理診断が患者予後に重要となる。

細胆管細胞癌は本邦では肝癌取扱い規約第5版(2008)より独立分類として扱われる一方、WHO分類(2010)では幹細胞形質を有する混合型肝癌の一亜型として扱われている<sup>(3)</sup>。本邦の取扱い規約とWHO分類で扱いが異なるため、実地の病理診断の現場で混乱が生じ、類似した疾患に異なった診断名が付けられている可能性がある。肝癌取扱い規約第6版(2015)でも細胆管細胞癌は独立分類として扱われており、この乖離は現在も続いている<sup>(4)</sup>。

細胆管細胞癌の発生母地について最初の報告者であるSteinerらは肝細胞から小葉間胆管までと想定した<sup>(2)</sup>。現在はHering管あるいは細胆管にあるとされる肝前駆細胞に由来する腫瘍とする意見が主流である<sup>(5,6)</sup>。この根拠として細胆管と細胆管細胞癌の形態が類似すること、いずれも幹細胞マーカーが陽性となることなどが挙げられている。一方で小葉間胆管由来の可能性を示唆する報告もあり<sup>(7)</sup>、明確な結論に至っていない。またWHO分類(2010)では細胆管細胞癌は幹細胞形質を有する混合型肝癌の一亜型とされているが、肝細胞癌では幹細胞形質は癌の進展、増大と共に二次性獲得によって発現するとの報告もある<sup>(8)</sup>。我々は正常の小葉間胆管が細胆管細胞癌と同様に幹細胞マーカー陽性となることを報告した(2017年肝癌研究会)。これは幹細胞マーカー陽性となることが必ずしも幹細胞由来の根拠と言えないことを意味する。

本研究では臨床症例について免疫組織化学的手法を用いて検討することで、細胆管細胞癌の発生母地や幹細胞形質についての有用なエビデンスの構築を目指す。これを通じて原発性肝癌における細胆管細胞癌の位置付けについて再検討することを目的とする。

## 結 果

### ① 細胆管細胞癌の亜分類

細胆管細胞癌の典型例を呈示する。境界明瞭な白色結節を呈し、組織学的には線維化を伴って小型の腺管が不規則に増生する。“鹿の角状”と言われる枝分かれ状構造が見られる。腺腔構造が見られるが粘液産生は見られない(図1)。免疫染色では肝細胞系マーカーであるHepPar1が陰性となり、胆管系マーカーであるCK7が陽性となる。EMA染色で管腔面に陽性像が見られる事が細胆管細胞癌の特徴とされている(図1)。このような細胆管細胞癌および肝内胆管癌で構成され、肝細胞癌成分を含まない群をKondoらはPure biliary typeと分類する事を提唱している(図4)<sup>(9)</sup>。

一方、肝細胞癌成分を伴う例も見られる。図2に示す症例では腫瘍の大半が肝細胞癌からなり、腫瘍中心部

に上記と同様の免疫染色結果を示す細胆管細胞癌が認められる。両者は移行像が見られる。Kondoらの提唱に基づき、この群をHepatobiliary typeと分類する<sup>(9)</sup>。

### ② 細胆管細胞癌の免疫染色

本研究では細胆管細胞癌37例(Pure biliary type 33例、Hepatobiliary type 4例)、肝細胞癌(Hepatocellular carcinoma, HCC) 94例(高分化癌16例、中分化癌74例、低分化癌4例)を対象とした。いずれも当院で2009年から2018年に切除された症例であり、組

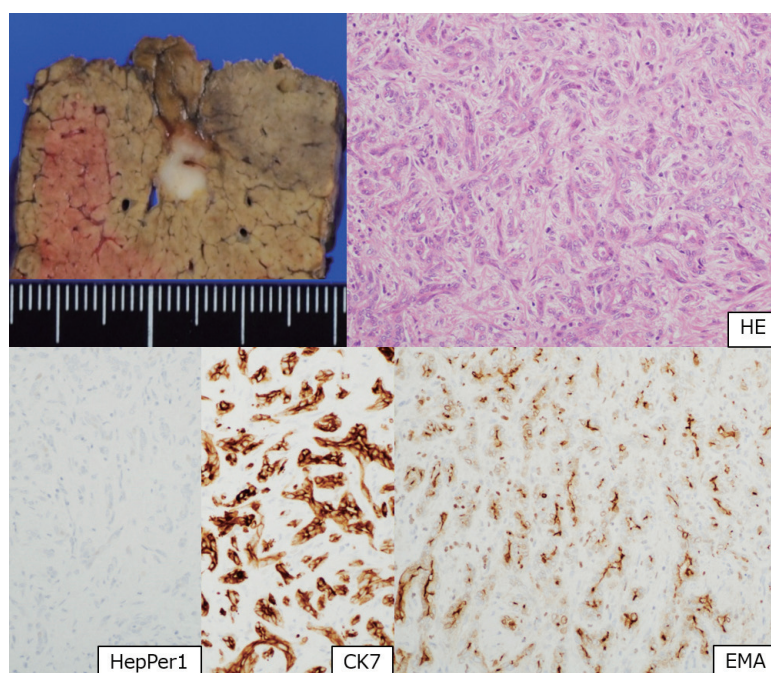


図1 細胆管細胞癌 Pure biliary type

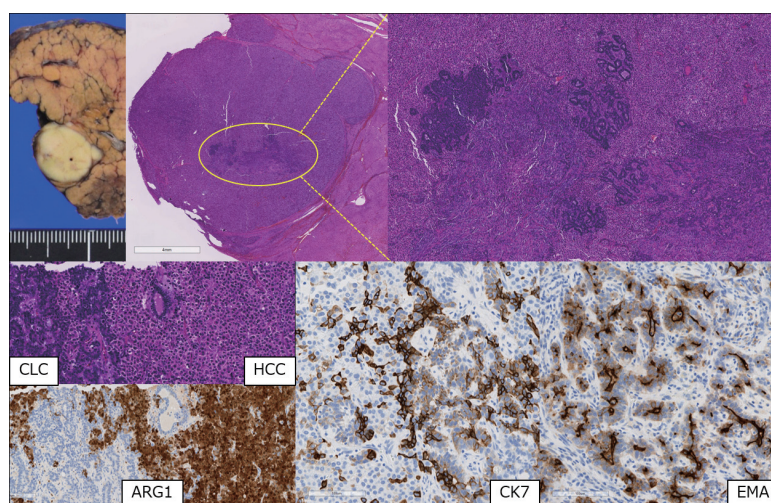


図2 細胆管細胞癌 Hepatobiliary type

組織分類は肝臓取り扱い規約第6版(2015)に基づいて診断した<sup>(4)</sup>。患者背景を表1に示す。細胆管細胞癌は慢性炎症を背景とし、背景肝は慢性肝炎相当が多いとされるが、いずれの亜型も肝硬変を背景とする発癌が比較的多く認められた (Pure biliary type 36%, Hepatobiliary type 50%)。また、Hepatobiliary typeは背景肝の線維化が強い割合が多かった。免疫染色結果を表2にまとめた。Pure biliary typeとHepatobiliary typeのCLC componentは類似する染色結果を示すが、EpCAMの染色性に差が認められた。Hepatobiliary typeのHCC componentと通常型の肝細胞癌も同様に類似する染色結果を示した。

| Classification | Cases | Age<br>[y.o.] | Sex | Viral<br>Infection        | Drinking<br>history | AFP<br>[ug/L] | PIVKA-II<br>[AU/L] | size<br>[mm] | Background<br>liver |
|----------------|-------|---------------|-----|---------------------------|---------------------|---------------|--------------------|--------------|---------------------|
| Pure biliary   | 33    | 61.8          | M29 | B+ 5<br>C+ 3              | ALD 9               |               |                    |              | CH/F1-2 16          |
|                |       |               |     | B+C+ 1<br>B-C- 13         | chance 14           | 214           | 31.2               | 23.3         | LF/F3 5             |
|                |       |               |     | F4 HBV-SVR 4<br>HCV-SVR 7 | none 9              |               |                    |              | LC/F4 12            |
| Hepatobiliary  | 4     | 61.8          | M2  | B+ 2                      | ALD 2               |               |                    |              | CH/F1-2 0           |
|                |       |               |     | F2 HCV-SVR 2              | chance 1<br>none 1  | 43.4          | 60.0               | 20.5         | LF/F3 2<br>LC/F4 2  |

表1 細胆管細胞癌の患者背景

|         | Cholangiolocellular carcinoma |                    |               | Hepatocellular carcinoma |            |        |
|---------|-------------------------------|--------------------|---------------|--------------------------|------------|--------|
|         | Pure biliary type             | Hepatobiliary type |               | Well                     | Moderately | Poorly |
|         |                               | CLC component      | HCC component |                          |            |        |
|         | n=33                          | n=4                |               | n=16                     | n=74       | n=4    |
| HepPar1 | 0                             | 0                  | 100           | 100                      | 100        | 100    |
| ARG1    | 0                             | 0                  | 100           | 100                      | 100        | 100    |
| AFP     | 6.1                           | 0                  | 0             | 0                        | 10.8       | 25.0   |
| GPC3    | 15.2                          | 25.0               | 50.0          | -                        | -          | -      |
| CK7     | 100                           | 100                | 50.0          | 87.5                     | 75.7       | 25.0   |
| CK19    | 90.9                          | 75.0               | 0             | 18.8                     | 17.6       | 50.0   |
| EMA     | 100                           | 100                | 0             | 0                        | 0          | 0      |
| pCEA    | 39.4                          | 25.0               | 0             | 0                        | 14.9       | 0.0    |
| EpCAM   | 90.6                          | 0                  | 0             | 0                        | 10.8       | 0.0    |
| c-kit   | 6.1                           | 0                  | 0             | 0                        | 0          | 0.0    |
| DLK1    | 12.1                          | 0                  | 0             | -                        | -          | -      |
| SOX9    | 93.8                          | 100                | 50.0          | -                        | -          | -      |
| CD56    | 87.9                          | 50.0               | 0             | 6.2                      | 8.1        | 50.0   |

表2 細胆管細胞癌の免疫染色結果

### ③ 幹細胞マーカーの検討

WHO分類(2010)では細胆管細胞癌は幹細胞形質を有し、その根拠としてc-kit, CD56, EpCAMなどの幹細胞マーカーが陽性となることを挙げている。しかし細胆管細胞癌や肝細胞癌症例周囲の正常肝組織では細胆管や小葉間胆管も幹細胞マーカーが陽性となる(図3)。



細胆管細胞癌と細胆管、小葉間胆管の幹細胞マーカー染色結果を表3に示す。WHO分類(2010)で幹細胞形質の根拠として挙げられるマーカーは細胆管や小葉間胆管でも陽性となることが示された。

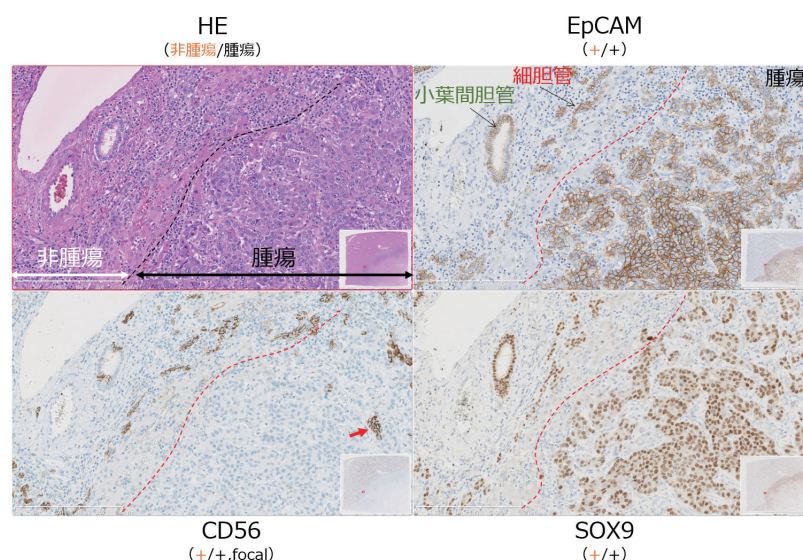


図3 細胆管、小葉間胆管の組織像

|                        |               | EMA | EpCAM | c-kit | DLK1 | SOX9 | CD56 |
|------------------------|---------------|-----|-------|-------|------|------|------|
| Pure biliary type      | n=33          | 100 | 90.6  | 6.1   | 12.1 | 93.8 | 87.9 |
| Hepatobiliary type     | CLC component | 100 | 0     | 0     | 0    | 100  | 50.0 |
|                        | HCC component | 0   | 0     | 0     | 0    | 50.0 | 0    |
| Cholangiole            |               | +/- | +     | +     | -    | +    | +    |
| Interlobular bile duct |               | +   | +     | -     | -    | +    | +/-  |

表3 細胆管細胞癌と細胆管、小葉間胆管の免疫染色結果

## 考 察

細胆管細胞癌は稀な腫瘍であり、原発性肝癌のHigh Volume Centerである当院においても10年間で33例であった。ただし、Hepatobiliary typeについてはCLC成分が少量に留まる場合、標本作製の際にCLC成分が見逃されている可能性がある。そのため、Hepatobiliary typeの症例数は過小評価されている可能性が推測される。

細胆管細胞癌の亜分類はKondoらの提唱に従った(図4)<sup>(9)</sup>。Pure biliary typeは直径5mm大の小型の症例も見られるが細胆管細胞癌あるいは胆管癌成分で構成される。また正常肝組織中の細胆管や小葉間胆管も細胆管細胞癌と同様に幹細胞マーカー陽性を示した。

## Classification of cholangiolocellular carcinoma

### A. Pure biliary type

Typical subtype  
Almost pure CLC



Non-typical subtypes

CLC and ICC

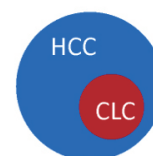


CLC in ICC



### B. Hepatobiliary type

Typical subtype  
CLC in HCC



Non-typical subtypes

CLC in ICC in HCC



CLC and ICC in HCC



図4 細胆管細胞癌の亜分類<sup>9)</sup>

Maenoらは形態学的にCLCの腺管のサイズが細胆管よりもむしろ肝内胆管に近い事を示している<sup>(7)</sup>。これらよりPure biliary typeの発生母地は細胆管だけでなく、小葉間胆管や肝内胆管である可能性も示唆される。

Hepatobiliary typeは肝細胞癌内に結節状に細胆管細胞癌成分が認められ、細胆管細胞癌成分が優位となる症例は見られなかった。今回の免疫染色結果ではHepatobiliary typeのHCC成分は肝細胞癌と類似しており、Hepatobiliary typeのHCC成分は肝細胞癌と幹細胞形質に差が無いことが示された。これらから通常の肝細胞癌がHepatobiliary typeの発生母地であると推測される。

一方でHepatobiliary typeのCLC成分とPure biliary typeの免疫染色結果は類似するがEpCAMに差が見られた。組織型は類似するが発生母地の違いにより幹細胞マーカーの発現に差が生じた可能性が示唆される。

2018年にAFIP腫瘍病理アトラスが改定されたが、本書ではWHO分類（2010）を否定し、細胆管細胞癌を肝内胆管癌の一亜型と位置付けた。2019年7月にはWHO分類第5版が出版された。WHO分類（2019）ではHCC成分を伴う細胆管細胞癌は混合型肝癌に含まれ、HCC成分を伴わない細胆管細胞癌は肝内胆管癌の一亜型と考えられていると記載されている。これらはいずれも我々の結果と合致する。特にHCC成分を伴うHepatobiliary typeと伴わないPure biliary typeで分類が異なる事は発生母地の違いを反映すると考えられる。なお、本邦の肝癌取扱い規約は2019年に第6版補訂版が出版されたが細胆管細胞癌の記述に変更は見られなかった。

今回、細胆管細胞癌が2つの亜型に分類され、発生母地が異なる可能性があるが免疫組織学的形質は類似することが示された。Pure biliary typeは細胆管由来ではなく、肝内胆管癌の一亜型として捉えられるように変化しつつあるが、細胆管細胞癌と分類される腫瘍が原発性肝癌の中で予後良好な群であることは変わりなく、今後も病理診断が患者予後に重要となる。Hepatobiliary typeは肝細胞癌から細胆管細胞癌の形質を有する腫瘍が生じることを示唆しており、形質転換の詳細を検討することが新たな治療ターゲットにつながると考えられる。免疫組織化学染色は強力な研究手法であるが、有効な抗体の存在しない遺伝子や蛋白質の変異が多く認められ、今後は遺伝子発現プロファイルの解析やエピゲノム変化の検出が必要となる。さらなる検討を行い、実地の病理診断の現場で役立つ診断基準の確立や新規治療法の開発を目指していきたい。

## 要 約

細胆管細胞癌は細胆管細胞癌成分や胆管癌成分のみで構成されるPure biliary typeと、細胆管細胞癌成分と肝細胞癌成分で構成されるHepatobiliary typeに分類される。細胆管細胞癌は細胆管由来とされているが、Pure biliary typeについては細胆管由来ではなく細胆管～小葉間胆管由来、Hepatobiliary typeについては肝細胞癌由来が示唆される結果で

あった。これらは最新のAFIP腫瘍病理アトラスやWHO分類（2019）の内容とも合致する。今後さらなる検討を行い、実地の病理診断の現場で役立つ診断基準の確立や新規治療法の開発を目指す。

## 文 献

1. [https://ganjoho.jp/reg\\_stat/statistics/stat/summary.html](https://ganjoho.jp/reg_stat/statistics/stat/summary.html)
2. Steiner PE, Higgenson J. Cholangiolocellular carcinoma of the liver. *Cancer* 12:753-9, 1959.
3. Theise ND, Nakashima O, Park YN, et.al. Combined hepatocellular-cholangiocarcinoma. In: World Health Organization Classification of Tumors. WHO Classification of Tumors of the Digestive System. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, et al., Eds. International Agency for Research on Cancer, Lyon, 2010: 225-227.
4. Liver Cancer Study Group of Japan. In: The general rules for the clinical and pathological study of primary liver cancer. 6th ed. Revised Ver. Kanehara, Tokyo, 2019. (in Japanese) .
5. Shiota K, Taguchi J, Nakashima O, et al. Clinicopathologic study on cholangiolocellular carcinoma. *Oncol Rep* 8:263-8, 2001.
6. Komuta M, Spee B, Borghet S, et al. Clinicopathological study on cholangiolocellular carcinoma suggesting hepatic progenitor cell origin. *Hepatology* 47:1544-56, 2008.
7. Maeno S, Kondo F, Sano K, et al. Morphometric and immunohistochemical study of cholangiolocellular carcinoma: Comparison with non-neoplastic cholangiole, interlobular duct and septal duct. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 19:289-96, 2012.
8. Kumagai A, et al. Immunohistochemical study of hepatocyte, cholangiocyte and stem cell markers of hepatocellular carcinoma: the second report: relationship with tumor size and cell differentiation *J Hepatobiliary Pancreat Sci*. 23 (7) , 414-21, 2016.
9. Kondo F, Fukusato T, Tokairin T, et al. Chapter 11: Cholangiolocellular carcinoma: Is it a subtype of cholangiocarcinoma or combined hepatocellular cholangiocarcinoma? *Pathology of the Bile Duct*, Yasuni Nakanuma, Springer Natur, Singapore.